

AKTIVITAS ENZIM SELULASE DARI KAPANG SELULOLITIK PADA SUBSTRAT AMPAS KELAPA

Ariani Kasmiran dan Tarmizi

Dosen Fakultas Pertanian Universitas Almuslim

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji aktivitas enzim selulase dari kapang selulolitik sehingga kualitas ampas kelapa dapat ditingkatkan sebagai pakan bagi ternak. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Industri Pakan, Fakultas Peternakan Universitas Andalas Padang. Penelitian ini menggunakan substrat ampas kelapa yang difermentasi dengan 4 jenis kapang (*Trichoderma reesei*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae* dan *pennicillium* sp) selama 2 sampai 10 hari, dengan indikator aktivitas selulase dan protein terlarut. Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial 5x4 dengan 4 ulangan. Perlakuannya adalah (A1 = *Trichoderma reesei*), (A2 = *Aspergillus niger*), (A3 = *Aspergillus oryzae*) dan (A4 = *Penicillium* sp) dengan lama fermentasi (B1 = 2 hari, B2 = 4 hari, B3 = 6 hari, B4 = 8 hari dan B5 = 10 hari). Produksi enzim selulase tertinggi oleh kapang *Aspergillus niger* sebesar 2,39 U/ml kemudian diikuti oleh *Trichoderma reesei* sebesar 2,37 U/ml; *Pennicillium* sp sebesar 2,19 U/ml dan *Aspergillus oryzae* sebesar 1,89 U/ml. Hasil analisis statistik menggambarkan bahwa tidak terdapat interaksi antara waktu fermentasi dengan jenis kapang yang digunakan, dan waktu optimum fermentasi pada hari kedua dan ke empat.

Kata Kunci: enzim selulase, selulolitik, substrat

I. PENDAHULUAN

Potensi ampas kelapa cukup besar untuk dikembangkan mengingat di negara Asia, kelapa digunakan selain menghasilkan minyak juga menghasilkan santan kelapa yang digunakan untuk memasak. Produksi kelapa dunia pada tahun 2002 dilaporkan oleh FAO adalah 2 juta Mt dengan pertumbuhan 1.4% (FAO, 2002). Ampas kelapa mengandung serat kasar yang tinggi, rendah palatabilitas dan kekurangan beberapa asam amino esensial dan beberapa masalah nutrisi lainnya seperti adanya beberapa antinutrisi misalnya mannan, galaktomanan, xylan, dan arabinosykan yang sangat terbatas penggunaannya bagi ternak unggas. Ampas kelapa mengandung komponen polisakarida dalam bentuk galaktomannan 61 %, mannan 26 %, dan selulosa 13% (Purawisastra, 2001)

Enzim Selulase merupakan enzim hidrolase yang dapat mengkatalis reaksi hidrolisis ikatan β -1,4 glukana

glukano hidrolase. Enzim selulase sangat penting karena enzim selulase dapat dimanfaatkan untuk mengatasi lingkungan dari limbah selulosa. Enzim selulase menguraikan selulosa menjadi golongan kecil yang kemudian dapat diuraikan lebih lanjut menjadi monomernya glukosa. Enzim selulase juga dapat menguraikan ikatan lignoselulosa yang terdapat pada limbah pertanian dan perkebunan. Enzim selulase termasuk enzim ekstraseluler yang mempunyai kemampuan besar dalam mengdegradasi limbah organik, terutama limbah pertanian dan limbah industri (Cordoba *et al*, 2003). Fungsi biologi dari enzim ekstraseluler adalah menghidrolisis makromolekul yang terlalu besar seperti selulosa untuk dibawa ke dalam sel (Machuca dan ferraz, 2001)

Beberapa kapang yang termasuk kelompok selulolitik diantaranya adalah *Trichoderma reesei*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae* dan *pennicillium* sp. Namun enzim selulase yang diproduksi oleh kapang ini tidaklah sama untuk setiap

substrat yang dirombaknya, oleh sebab itu perlu dilakukan suatu penelitian untuk melihat kemampuan kapang ini dalam memproduksi enzim sellulase pada substrat ampas kelapa.

II. TINJAUAN PUSTAKA

Indonesia merupakan Negara penghasil kelapa, tercatat pada tahun 1991 produksinya mencapai 14 milyar ton (Santoso *et al.*, 1996), pada tahun 2002 produksi buah kelapa Indonesia rata-rata 15,5 milyar butir/tahun (Agustian *et al.*, 2003). Populasi tanaman kelapa di Sumatera Barat adalah 90.190 ha, 260 ribu batang produksinya sekitar 11.7 juta buah/th, 1 Kg daging kelapa parut menghasilkan 190 g ampas kelapa (Dinas Perkebunan dan Kehutanan SUMBAR, 2009).

Pemanfaatan ampas kelapa juga merupakan usaha untuk memanfaatkan bahan yang tidak terpakai lagi bagi konsumsi manusia. Ampas kelapa biasanya tidak diperjual-belikan, dapat diperoleh cukup banyak dari tempat-tempat penghasil makanan manusia yang menggunakan bahan dasar kelapa (Goenarso *et al.*, 2003).

Penggunaan enzim telah banyak digunakan oleh industri unggas, karena dapat meningkatkan nilai gizi makanan dan memperbaiki kualitas pada pakan ternak, enzim mannanase dapat diproduksi dari ampas kelapa, sesuai dengan pendapat Lin and Chen (2004), yang menyatakan bahwa kopra adalah sumber karbon yang baik untuk produksi jamur mannanase, tapi isi minyak yang tinggi menekan pertumbuhan mikroorganisme. Pemanfaatan mikroorganisme sebagai sumber enzim memiliki beberapa keuntungan antara lain : produksi mikroorganisme dalam menghasilkan enzim dapat ditingkatkan dengan mudah, selama proses fermentasi mikroorganisme dapat mempertahankan sifat fisiologinya dan memproduksi enzim dengan segera, serta produk yang dihasilkannya tidak menimbulkan gangguan terhadap lingkungan (Akhtar, 1997).

Enzim ekstraselular dari kapang *Aspergillus wentii* TISTR 3075, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Trichoderma reesei* TISTR3 3080 dan *Penicillium* sp dapat menghasilkan enzim mannanase,

sellulase dan xilanase dengan menggunakan bungkil inti sawit sebagai substrat (Lee, 2007).

Enzim sellulase secara konseptual adalah enzim yang dapat mendegradasi sellulosa menjadi gula sederhana sehingga dapat melalui dinding sel mikroba. Degradasi sellulosa adalah proses yang kompleks, dan merupakan aksi sinergis oleh beberapa enzim (Pandey *et al.*, 2000; Susanti, 2007)). Menurut Cruz *et al.*, (2004); Susanti, (2007) enzim sellulase sesungguhnya merupakan suatu kompleks enzim yang terdiri dari beberapa enzim yang bekerja bertahap menguraikan sellulosa menjadi glukosa.

Bungkil kelapa yang dihilangkan lemak adalah salah satu karbon terbaik untuk budidaya *Aspergillus niger* NCH-189 dan produksi enzim mannanase. Aktivitas enzim dapat ditingkatkan hingga empat kali dibandingkan dengan sumber karbon lain. Aktivitas enzim tertinggi diperoleh ketika minyaknya kurang dari 3% dari berat kering. Sehingga pemisahan minyak dari daging kelapa penting dilakukan.

Kapang adalah mikroorganisme utama penghasil enzim sellulase seperti *Aspergillus* spp. (Guzinska *et al.*, 2003 dan Bakir *et al.*, 2001), *Trichoderma* spp. (Aiello *et al.*, 1996) dan *Penicillium* sp. (Jorgensen *et al.*, 2003). Beberapa mikroorganisme termasuk *Trichoderma* spp. (Cobos dan Estrada, 2003), *Penicillium* spp. (Ryan *et al.*, 2003), *Aspergillus* spp. (Lu, *et al.*, 2003). *Aspergillus niger* dikenal sebagai salah satu jenis mikroorganisme yang berkemampuan baik dalam menghasilkan enzim sellulase dan amiloglukosidase (Harjo dkk, 1989). Enzim yang dihasilkan oleh *Aspergillus niger* tergolong enzim ekstraseluler yang berfungsi untuk memecah molekul-molekul yang kompleks menjadi molekul yang sederhana (Moor dan Landecker, 1982).

III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN

3.1. Bahan dan alat

Alat-alat yang digunakan Spectronic, autoclaf, inkas steril (ruang steril), inkubator, sentrifuse, timbang analitik,

pemanas, jarum ose, vortek, pipet mikro, water bath, hotplate, lampu spritus, cawan petri, erlemeyer, gelas piala, tabung reaksi, gelas ukur dan peralatan yang biasa digunakan dilaboratorium.

Produksi enzim sellulase dengan menggunakan metode fermentasi medium padat (SSF), di mana ampas kelapa sebagai substrat. Ampas kelapa sebagai substrat disteril dengan menggunakan autoclave, didinginkan pada suhu ruang selama satu jam, kemudian dimasukkan 10 ml suspensi spora kedalam kantong plastik diaduk sampai merata dan diinkubasi pada suhu 30 °C selama 10 hari. Sampel dipanen sekali dua hari, semua sampel yang akan dipanen diulang sebanyak 4 kali dan langsung diekstrak enzim kasarnya.

Sepuluh gram produk SSF direndam dengan buffer asetat 0,05 M pH 5,0, Ekstraksi dilakukan dengan shaker pada 200 rpm, 20 °C untuk 30 menit, kemudian disaring dengan kain kasa ukuran 200 mesh, dan dicatat volumenya, kemudian ekstrak

enzim disaring dengan kertas saring Whatman No.1 dan supernatants disimpan pada suhu -20 °C (enzim kasar). Pengujian aktifitas enzim menggunakan metode dinitrosalicylic acid/DNS (Miller, 1959). Sedangkan untuk pengujian kandungan protein enzim menggunakan metode Lowry

3.2. Metode Penelitian

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode eksperimen di Laboratorium dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial 5x4 dengan 4 ulangan di mana, faktor A adalah jenis kapang yang terdiri dari :A1 = *Trichoderma reesei*, A2 = *Aspergillus niger*, A3 = *Aspergillus oryzae*, dan A4 = *Penicillium sp.* Faktor B adalah waktu pemanenan produk fermentasi ampas kelapa yang terdiri dari :B1 = 2 hari, B2 = 4 hari, B3 = 6 hari, B4 = 8 hari dan B5 = 10 hari

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Rataan aktivitas enzim sellulase dari hari kedua sampai hari kesepuluh (U/ml)

| Perlakuan | B1 (2 hari) | B2 (4 hari) | B3 (6 hari) | B4 (8 hari) | B5 (10 hari) | Rataan |
|------------------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-------------------|--------------------|
| A1(<i>T. reesei</i>) | 2,37 | 2,31 | 2,15 | 1,87 | 1,68 | 2,08 ^{ab} |
| A2(<i>A. niger</i>) | 2,37 | 2,39 | 2,29 | 2,02 | 1,90 | 2,19 ^a |
| A3(<i>A. Oryzae</i>) | 1,99 | 1,89 | 1,87 | 1,69 | 1,45 | 1,78 ^c |
| A4 (<i>Penicillium sp</i>) | 1,87 | 2,19 | 1,98 | 1,76 | 1,63 | 1,89 ^{bc} |
| Rataan | 2,15 ^A | 2,19 ^A | 2,07 ^{AB} | 1,83 ^{BC} | 1,67 ^C | |

Keterangan : Huruf besar yang berbeda pada baris dan huruf kecil yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata (P<0,05)

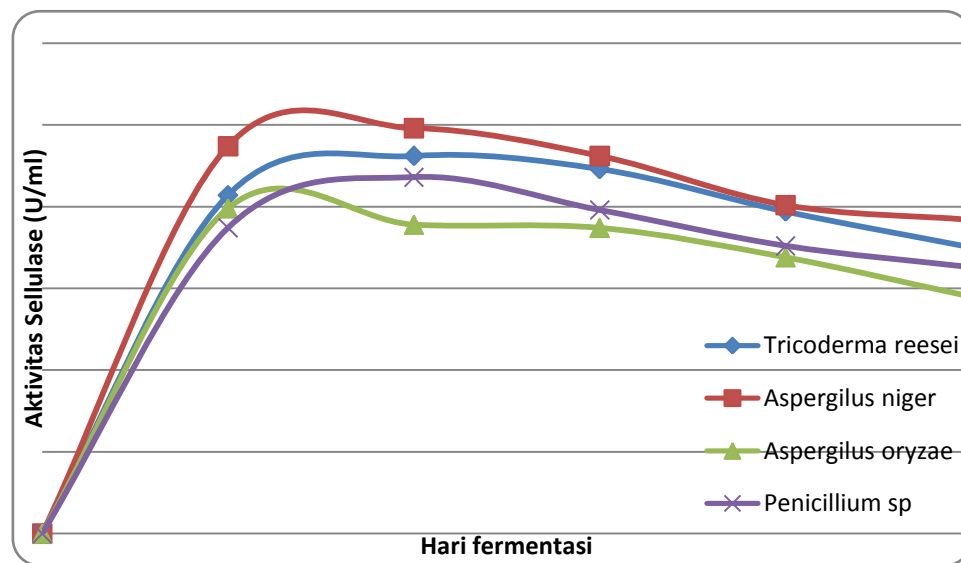
Hasil analisis sidik ragam memperlihatkan bahwa antara perlakuan dengan waktu fermentasi tidak terdapat interaksi terhadap produksi enzim sellulase, tidak terdapatnya interaksi mengindikasikan bahwa tidak ada pengaruh lama fermentasi terhadap perlakuan, kapang mampu memproduksi enzim sellulase dari hari kedua sampai pada hari keenam di mana, tidak terdapat perbedaan antara hari kedua keempat dan hari keenam, namun aktivitas menurun setelah hari keenam. Penurunan

ini karena kapang memasuki fase kematian atau fase stationeri

aktivitas enzim sellulase tertinggi adalah pada kapang *Aspergillus niger* sebesar 2,39 U/ml, diikuti oleh *Trichoderma reesei* 2,37 U/ml dan *Penicillium sp* 2,18 U/ml dan yang terendah *Aspergillus oryzae* 1,97 U/ml. Perbedaan aktivitas sellulase ini karena kapang di dalam mendegradasi sellulosa yang terkandung pada ampas kelapa mempunyai kemampuan berbeda-beda, setiap spesies kapang memiliki substrat yang spesifik untuk

memproduksi enzim dengan optimum. Ampas kelapa yang digunakan pada penelitian ini memberikan kondisi dan kandungan nutrisi yang cocok untuk pertumbuhan *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* sehingga enzim selulase yang dihasilkan dapat menghidrolisis selulosa dengan sempurna, seperti yang dilansir oleh Zaldivar *et al.*, (2001) bahwa jamur spesies *Trichoderma* dan *Aspergillus* ya

ngpaling baik dalam mensekresikan sejumlah besar enzim selulolitik, seperti selulase dan hemiselulase. Selulase adalah enzim kompleks yang melibatkan tindakan sinergis endoglukanase (Cx), eksoglukanase (C1) dan selobiase (CB). Pada pH 5.5 aktivitas enzim selulase tinggi dihasilkan kapang *Trichoderma reesei* (Wen *et al*, 2005).



Gambar 1. Aktivitas enzim selulase dari ampas kelapa yang di fermentasi dengan empat kapang pendegradasi polisakarida (U/ml)

Terdapatnya perbedaan aktivitas enzim selulase pada Gambar 1 karena, kapang memiliki beberapa fase dalam pertumbuhannya di mana salah satu fase yang menjadi penentuan dalam menghasilkan enzim adalah fase logaritmik yaitu suatu periode pembiakan yang cepat dan waktu penggandaan tidak sama antara berbagai mikroorganisme dari beberapa menit, beberapa jam sampai beberapa hari tergantung kecepatan pertumbuhannya (Sumarsih, 2003).

Aktivitas maksimum masing-masing kapang terjadi pada hari kedua dan hari keempat, aktivitas tertinggi terjadi pada *Aspergillus niger* sebesar 2,39 U/ml, ini sesuai dengan penelitian Milala dkk. (2005) melaporkan bahwa aktifitas tertinggi pada produksi enzim selulase adalah

menggunakan *Aspergillus niger*. Suprijatno (2008) menyatakan bahwa aktivitas selulase dari jamur *Aspergillus niger* terdapat pada hari keempat. Abdul Aziz Darwis dkk, (1995) menambahkan bahwa aktivitas tertinggi kapang *Aspergillus niger* diperoleh sebelum memasuki fase eksponensial (stasioner) yaitu pada hari ke-4 fermentasi.

Aktivitas selulase maksimum pada penelitian ini 2,39 U/ml, hasil ini lebih tinggi dibandingkan dengan yang dilaporkan Lee (2007) yang menggunakan bungkil inti sawit sebagai substrat yaitu sebesar 1,3 U/ml. Perbedaan ini karena antara ampas kelapa dengan bungkil inti sawit memiliki persentase komponen selulosa yang berbeda yaitu 13 % pada

ampas kelapa dan 7,2 % pada bungkil inti sawit.

Tabel 2. Rataan aktivitas spesifik enzim selulase dari hari kedua sampai hari kesepuluh (U/mg)

| Perlakuan | B1 (2 hari) | B2 (4 hari) | B3 (6hari) | B4 (8hari) | B5 (10hari) | Rataan |
|-----------------------------|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------|
| A1(<i>T. reseei</i>) | 9,10 ^{Aa} | 8,25 ^{Bb} | 7,40 ^{Cab} | 5,65 ^{Da} | 4,95 ^{Da} | 7,07 |
| A2(<i>A. niger</i>) | 8,79 ^{ABa} | 9,18 ^{Aa} | 8,16 ^{Ba} | 5,93 ^{Ca} | 5,43 ^{Ca} | 7,50 |
| A3(<i>A. Oryzae</i>) | 3,63 ^{Bc} | 4,34 ^{Bc} | 5,35 ^{Ac} | 4,34 ^{Bb} | 3,63 ^{Bb} | 4,26 |
| A4 (<i>Penicillium</i> sp) | 7,49 ^{ABb} | 8,09 ^{Ab} | 6,83 ^{Bb} | 5,50 ^{Ca} | 4,94 ^{Ca} | 6,57 |
| Rataan | 7,25 | 7,46 | 6,93 | 5,35 | 4,74 | |

Keterangan : Huruf besar yang berbeda pada baris dan huruf kecil yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata (P<0,05)

Terdapatnya interaksi antara perlakuan dan lama fermentasi untuk aktivitas spesifik enzim selulase, ini disebabkan karena kandungan selulosa dalam ampas kelapa, sehingga kapang lebih dominan memproduksi enzim selulase untuk merombak ikatan selulosa yang terkandung pada ampas kelapa. Analisa kadar protein dilakukan untuk mengetahui banyaknya enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme, tingginya kelarutan nutrien dalam media sehingga suplai nutrien untuk pertumbuhan kapang semakin besar.

Perbedaan dari aktivitas spesifik selulase karena, substrat ampas kelapa mengandung beberapa nutrien dan kapang mengeluarkan enzim sesuai dengan kadungan nutrien yang terdapat pada ampas kelapa sehingga protein yang terukur adalah akumulasi dari semua aktivitas enzim. *Aspergillus niger* dikenal sebagai salah satu jenis mikroorganisme yang berkemampuan baik dalam menghasilkan enzim. Selulase dan amiloglukosidase merupakan enzim yang dihasilkan oleh *Aspergillus niger* (Harjo dkk, 1989). Interaksi juga disebabkan karena satu jenis kapang menghasilkan beberapa enzim, sementara kita hanya mengukur protein totalnya saja, seperti yang dialporkan oleh Harjo dkk, (1989) bahwa selulasedan amilglukosidase merupakan enzim yang dihasilkan oleh *Aspergilus niger*.

V. KESIMPULAN

Kapang yang memproduksi enzim selulase paling baik pada substrat ampas kelapa adalah kapang *Aspergillus niger*

DAFTAR PUSTAKA

- Agustian, A., S. Priyatno, Supadi dan A. Askin. 2003. Analisis pengembangan agro-industri komoditas perkebunan rakyat (kopi dan kelapa) dalam mendukung peningkatan daya saing sektor pertanian. Makalah Seminar Hasil Penelitian Pusat Penelitian dan Pengembangan Sosial Ekonomi Pertanian Bogor. T.A. 2003. 38 hal
- Akhtar, M. 1997. Method of enchancing biopulping efficacy. Us patent 005. 620.564
- Dinas Perkebunan, 2009. Produksi Buah Kelapa. Sumatera Barat
- Cardoba, A.M., Ferraz, A, and Machuca, A. 2003. Wood biodegradation and enzim production by *Ceriporiopsis subvermispota* guring solid state fermentation of *Eucalyptus grandis*. *Enzyme Microb Technol* 32 : 59-65.
- Cruz. S.P.B., Freer, J, Siika, A.M, Machuca, A. 2004. Extraction and determination of enzyme produced by *Ceriporiopsis subvermispota*

- during biopulping of pinus taeda wood chips. *Enzyme Microb Technol* : 34:228-34
- FAO (1992). Regional Office for Asia and The Pacific (RAPA), Food and Agriculture Organization of the United Nations, Bangkok.
- Goenarso,. D. Suropto dan. K.I. Susanthi. 2003. Konsumsi Oksigen Kadar Hb Darah dan Pertumbuhan Ikan Mas *Cyprinus carpio* Diberi Pakan Campuran Ampas Kelapa. *Jurnal Matematika dan Sains* Vol. 8 No. 2 hal 51–56
- Lee, N.S. 2007. The production of fungal mannanase, cellulase and xylanase using palm kernel meal as a substrate. *Walailak J Sci & Tech* 4(1): 67-82.
- Lin, C., T. Chen,. C. 2004. Enhanced Mannanase Production by Submerged Culture of *Aspergillus niger* NCH-189 Using Defatted Copra Based Media. *Process Biochemistry* 39 (2004) 1103–1109
- Machuca, A. and Ferraz, A. 2001. Hydrolytic and oxidative enzymes produced by white-and brown rot fungi during *Eucalyptus grandis* decay in solid state medium. *Enzyme and Microb Techno* 29: 386-91
- Miller, G.L. 1959. Use of Dinitrisalisyllic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal Chem* 31 : 426-428.
- Pandey, A. Soccol. CR. Nigem, P. and Soccol, VT. 2000. Biotecnological potential of agro-instrial residues sugarcane bagase. *Bioresour Technol* 74 : 69-8-.
- Purawisastra,. S. 2001. Pengaruh Isolat Galaktomannan Kelapa terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Serum Kelinci. Research and Development of Nutrition and Food, NIHRD. Warta Litbang Kesehatan, Vol. 5 (3&4)
- Santoso, U. Kubo, Kazuhiro, O. Toru, Tadokorob, Tadahiro and Maekawab, Akio. 1996. Nutrient composition of kopyor coconuts (*Cocos nucifera* L.) *Food Chemistry*, Vol. 51, No. 2, pp. 299-304.
- Susanti, D. 2007. Seleksi dan produksi enzim selulase oleh kapang selulolitik menggunakan tongkol jagung dan blondo. Tesis Pascasarjana Universitas Andalas. Padang.
- Wen, Z., W. Liauo and S, Chen. 2005. Production of cellulose by *Tricoderma reesei* from dairy manure. *Bioresource Technology* 81 : 23-27.
- Yopi., Purnawan, A, Thontowi, A, Hermansyah, H, Wijanarko, A. 2006. Preparasi mannan dan mannanase kasar dari bungkil kelapa sawit. *Jurnal Teknologi*, Edisi No.4 Tahun XX, Desember 312-319